Bijdragen tot de Dierkunde, 50 (1): 96-104 — 1980

COMMUNAUTÉS ANTIGÉNIQUES DES VENINS ET SYSTÉMATIQUE DES ELAPINAE

par

H. SAINT GIRONS

Laboratoire d'Evolution des Etres organisés, 105 boulevard Raspail, 75006 Paris, France

&

J. DETRAIT

Institut Pasteur, 28 rue du Docteur Roux, 75724 Paris Cedex 15, France
Service de Pharmacologie et de Toxicologie

ABSTRACT

A study, by immunoelectrophoresis and immunodiffusion of the shared antigens in venoms from 15 genera and 29 species of Old World Elapinae, tested with 9 reference immune sera, yielded a number of results of phylogenetic and systematic significance:

1. The genus *Dendroaspis* differs markedly from all the other Elapinae.
2. The Australian Elapinae do not constitute an homogeneous group: many genera possess numerous shared antigens with *Bungarus* and to a lesser extent with *Naja*, whereas *Oxyuranus*, *Parademansia* and *Pseudonaja* have very weak cross-reactivity with other Elapinae.
3. The African *Naja* differ to some extent from the Asiatic ones. The latter are homogeneous and seem to belong to a single species, *Naja naja*.

RÉSUMÉ

L'étude, par immunoélectrophorèse et par immunodiffusion, des communautés antigéniques des venins de 15 genres et 29 espèces d'Elapinae de l'Ancien Monde, testés avec 6 immun-sérums de référence, apporte un certain nombre de données sur la phylogénie et la systématique de ce groupe:

1. Le genre *Dendroaspis* diffère beaucoup de tous les autres Elapinae.
2. Les Elapinae australiens ne forment pas un ensemble homogène: beaucoup de genres ont de nombreux antigènes communs avec *Bungarus* et, à un moindre degré, avec *Naja*, alors que *Oxyuranus*, *Parademansia* et *Pseudonaja* en sont très éloignés.
3. Les Najas africains diffèrent notablement des Najas asiatiques. En revanche, ces derniers sont très proches les uns des autres et, de ce point de vue, paraissent tous appartenir à une seule espèce, *Naja naja*.

INTRODUCTION

La sous-famille des Elapinae, souvent considérés comme une famille au même titre que les Hydrophiinae, forme un groupe morphologiquement assez homogène dont la phylogénie est mal connue. On ignore, notamment, les rapports qui peuvent exister entre les espèces océaniennes, particulièrement nombreuses et diversifiées, et les autres Elapinae. Dans ces conditions, le recours à l'immunotaxonomie paraît, a priori, souhaitable et, pour des raisons pratiques, les venins représentent à cet égard un matériel favorable.

Les venins des Elapinae et notamment leurs neurotoxines sont certainement mieux connus, d'un point de vue biochimique, que ceux des Viperidae (voir à ce sujet les mises au point récentes de Elliott, 1978; Boquet, 1979; Minton, 1979). Mais peu de travaux concernent directement les communautés antigéniques; en outre, la diversité des méthodes utilisées rend les comparaisons difficiles. Disposant au départ d'assez nombreux lots de venins et de plusieurs immun-sérums monospécifiques, il nous a semblé intéressant de compléter notre matériel dans la mesure du possible et d'étudier, à l'aide de techniques uniformes, les communautés antigéniques des venins de ces Serpents.

Nous tenons à remercier ici le Dr. S. K. Sutherland, Chef du Département d'Immunologie, Commonwealth Serum Laboratories, Australie, qui nous a généreusement procuré de nombreux venins australiens et un immun-sérum polyvalent, ainsi que le Dr. S. D. Bradshaw, Chef du Département de Zoologie de l'Université d'Australie occidentale, qui nous a reçu durant plusieurs mois dans son laboratoire. Ce travail a été fait grâce à des crédits d'Aide individuelle du C. N. R. S.

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

La liste des espèces étudiées figure dans le tableau I, la nomenclature utilisée étant celle de Klemmer (1963) pour les

Elapinae d'Afrique et d'Asie, celle de Cogger (1975) pour les Elapinae australiens.

Les immun-sérums, d'origine équine, proviennent tous d'animaux hyperimmunisés par injections de doses croissantes de venins et sont tous monovalents, à l'exception de l'immun-sérum australien qui a été préparé avec les venins de *Acanthophis antarticus, Notechis scutatus, Pseudechis australis, Pseudechis papuanus, Pseudonaja textilis* et *Oxyuranus scutellatus.* Tous les venins correspondent à des pools très importants, recueillis sur de nombreux individus dans une aire géographique généralement étendue, mais souvent imprécise. Finement broyés afin d'en assurer l'homogénéité, ces venins sont, lors des expériences, dissous dans du sérum physiologique à 9 pour 1000, à raison de 10 mg/ml. Les immun-sérums ont été préparés à partir de ces mêmes pools de venins et sont donc réellement homologues.

Les techniques d'immunoélectrophorèse et d'immunodiffusion utilisées au cours de ce travail ont déjà été décrites dans des articles antérieurs (Saint Girons & Detrait, 1978; Detrait & Saint Girons, 1979). Rappelons simplement que nous utilisons un gel d'agarose à 2% (tamponné à pH 8,6 pour les électrophorèses), coulé sur des plaques de verre de 13 × 18 cm, les immun-sérums étant placés dans des gouttières de 1,4 mm de large et les venins dans des puits de 2,7 mm de diamètre. Selon la longueur des gouttières, la quantité de sérum utilisée varie entre 0,20 et 0,40 ml, la quantité de venin étant toujours de 10 µl. La durée de la migration électrophorétique est de 2h, avec un potentiel de 1,5 V/cm sous 20 mA. Après 48h de repos à la température du laboratoire, les plaques sont lavées dans du sérum physiologique pendant 3 jours, mises à sécher 24h, puis colorées à la Rhodamine-Lissamine. Le décompte des lignes de précipités

TABLEAU I

Nombre de lignes de précipités discernables, en immunoélectrophorèse et en immunodiffusion. Pour les immun-sérums: B = *Bungarus fasciatus.* D = *Dendroaspis viridis.* h = *Naja haje.* m = *Naja melanoleuca.* n = *Naja nigricollis.* k = *N. naja kaouthia.* a = *N. naja atra.* p = *N. naja philippinensis.* A = australien polyvalent

	Immunoélectrophorèses									Immunodiffusions								
Immun-sérums / Venins	B	D	h	m	n	k	a	p	A	B	D	h	m	n	k	a	p	A
Bungarus fasciatus	14	0	5	4	4	3	2	2	6	9	1	2	1	3	2	2	2	
Dendroaspis viridis	1	15	1	1	2	1	1	1	1	1	12	0	0	1	1	1	1	
Dendroaspis angusticeps	1	7	2	1	2	2	1	2		0	4	0	0	1	0	0	0	
Dendroaspis jamesoni	1	8	2	1	1	1	1	1	1	0	6	0	0	1	0	0	0	
Dendroaspis polylepis	0	8	1	1	1	1	1	1		0	5	0	0	1	0	0	0	
Hemachatus haemachatus	4	4	7	6	7	4	4	5	4	2	2	5	6	5	3	4	3	
Naja haje	6	3	17	12	10	5	5	5	7	3	2	12	7	8	5	4	5	
Naja melanoleuca	7	4	14	17	13	6	5	6	6	4	1	9	11	8	5	4	7	
Naja nigricollis	6	3	8	11	18	4	5	5	6	3	2	5	7	13	4	3	5	
Naja nivea	6	3	9	9	9	4	4	6	4	2	0	7	7	7	4	4	4	
Naja naja kaouthia	8	2	5	8	7	11	7	9	7	3	0	3	5	6	10	7	9	
Naja naja atra	6	2	5	6	7	7	10	8	5	2	0	3	4	6	8	8	10	
Naja naja philippinensis	8	3	8	8	8	8	7	12	4	3	1	5	5	5	8	6	11	
Naja naja oxiana	7	3	10	7	10	9	7	8	6	3	1	6	6	6	8	7	6	
Acanthophis antarticus	4		5	4	4	3	3	3	10	3	2	4	2	2	2	2	2	8
Austrelaps superbus australia	6	4	5	4	4	3	2	2	6	5	2	3	3	3	2	2	2	5
Austrelaps superbus victoria	6	4	5	4	4	3	4	3	10	5	2	3	3	3	2	2	2	5
Cryptophis nigrescens	5	2	4	3	3	2	3	3	8	4	1	2	2	2	1	2	1	5
Demansia olivacea						2	1	3	5					2	1		1	
Hoplocephalus stephensii	4	1	2	2	2	2	2	2	7	3	1	2	1	2	1	1	0	4
Notechis ater occidentalis	4	1	2	2	2	1	1	2	9	3	1	2	2	1	1	1	2	9
Notechis ater niger	4	0	1	1	1	1	1	2	8	2	1	1	1	1	1	1	2	
Notechis ater serventyi	4	1	1	2	2	2	2	3	10	2	1	2	2	2	1	2	2	7
Notechis scutatus	5	2	3	4	4	3	2	5	9	2	1	2	2	2	1	2	2	6
Pseudechis australis	6	4	4	5	5	4	2	3	9	4	2	3	3	2	3	2	2	
Pseudechis colletti	5	3	5	5	4	4	3	4	8	4	2	4	4	2	3	2	2	
Pseudechis guttatus	6	3	4	5	4	3	2	3	8	4	2	3	3	2	3	2	2	6
Pseudechis papuanus	6	3	4	5	5	3	3	4	7	4	2	3	4	2	3	2	2	5
Pseudechis porphyriacus	4	2	5	5	4	4	2	2	7	4	2	4	4	2	3	2	2	4
Pseudonaja affinis	2	0	0	0	0	1	0	0	7	1	0	0	0	0	0	0	0	5
Pseudonaja nuchalis	1	0	0	0	0	0	0	0	7	1	0	0	0	0	0	0	0	5
Pseudonaja textilis	1	0	0	0	0	0	0	0	8	1	0	0	0	0	0	0	0	6
Parademansia microlepidota	2	1	1	1	1	1	1	1	11	1	0	1	1	0	1	0	0	6
Oxyuranus scutellatus	2	1	0	0	1	1	1	1	11	1	1	1	1	0	1	0	0	6
Tropidechis carinatus	6	1	3	3	3	2	2	3	7	3	1	1	1	1	1	1	2	6

est fait en plaçant les plaques dans un agrandisseur photographique et en dessinant les images obtenues, les résultats étant ensuite contrôlés à la loupe à plusieurs reprises.

Lors de l'interprétation des données, la signification statistique de la différence entre les moyennes a été appréciée à l'aide du test t de Student. Le cas échéant, nous indiquons après la moyenne l'écart type ($\pm \sigma$) et non la déviation standard ($\sigma/\sqrt{n}$); le nombre des données peut facilement être retrouvé sur les tableaux I et II.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Le tableau I donne les résultats bruts obtenus en testant les différents venins avec les immun-sérums dont nous disposions. Ainsi que nous l'avons déjà expliqué dans des publications antérieures, il est plus logique de travailler sur le pourcentage de lignes de précipités obtenues par rapport à la réaction homologue. Ces données proportionelles ont été regroupées par genre dans le tableau II, ce qui facilite l'interprétation. On voit que si les résultats obtenus par immunoélectrophorèse et par immunodiffusion ne sont pas toujours identiques, la corrélation est bonne dans l'ensemble: pour les 42 couples de données du tableau II, $r = 0,94$, avec $p < 0,001$. Sauf indications contraires, les communautés antigéniques évoquées dans le texte se réfèrent aux résultats des immunoélectrophorèses, que nous jugeons plus précis.

Le résultat le plus net est le peu de rapports qui existent entre les venins des *Dendroaspis* et ceux des autres Elapinae: en moyenne 8,4 ± 3,5% d'antigènes communs seulement. Il faut toutefois noter que le sérum anti-*Dendroaspis viridis* réagit de façon notable avec les venins de *Naja, Hemachatus, Austrelaps* et *Pseudechis* (en moyenne 20,8 ± 4,8% d'antigènes communs) en immunoélectrophorèse, moins en immunodiffusion ($\bar{x} = 12,3 \pm 6,7\%$), alors que, dans le cas de *Naja* et *Bungarus* tout au moins, la réaction inverse est pratiquement nulle. Grasset et al. (1956) avaient déjà constaté, en immunodiffusion, une assez grande distance immunologique entre les venins de *Naja* et *Dendroaspis*, tandis que Munjal & Elliott (1972) signalaient l'existence, chez ces derniers, d'enzymes immunologiquement différents de ceux d'Elapidae des genres *Naja, Ophiophagus, Bungarus* et *Micrurus*. On constate également que les venins de *Dendroaspis* sont les seuls qui ne réagissent pratiquement pas avec l'immun-sérum polyvalent australien.

Les venins des genres australiens *Oxyuranus, Parademansia* et *Pseudonaja* donnent également très peu de lignes de précipités lorsqu'on les fait réagir avec les immun-sérums d'Elapidae africains et asiatiques, la proportion d'antigènes communs n'étant que de 3,9 ± 4,8%. Nos données ne nous permettent malheureusement pas de savoir s'il en est de même vis à vis des autres Elapinae australiens, ni quels sont les rapports de ces trois genres entre eux. Toutefois, le fait que le venin hétérologue de *Parademansia* donne, avec le sérum polyvalent australien, autant de lignes de précipités que

TABLEAU II

Pourcentage moyen d'antigènes communs, par genre, dans le venin de divers Elapinae. Les sous-espèces ont été groupées par espèce et les espèces par genre, les réactions homologues n'étant pas prises en compte.

	Immunoélectrophorèses				Immunodiffusions			
	Bung.	*Dend.*	*Naja*	Poly. aust.	*Bung.*	*Dend.*	*Naja*	Poly. aust.
Bungarus			36,3±12,2	54,5			26,0±10,5	
Dendroaspis	4,3	51,1	11,3± 6,2	9,1	3,9	41,7	4,2± 5,6	
Naja			53,7±12,4	51,8			53,0±11,0	
Hemachatus	28,6	26,7	38,7± 2,5	36,4	22,2	16,7	42,6± 8,2	
Acanthophis	28,6		25,6± 3,4		33,3	16,7	22,0± 7,9	
Austrelaps	42,9	26,7	25,3± 3,2	54,5	55,6	16,7	24,1± 2,7	55,6
Cryptophis	35,7	13,3	20,6± 4,0	72,7	44,4	8,3	16,3± 1,5	55,6
Demansia			17,7	45,5			12,5	
Hoplocephalus	28,6	6,7	13,3± 3,4	63,6	33,3	8,3	12,2± 4,6	44,4
Notechis	32,2	8,9	16,9± 7,8		32,2	8,7	15,3± 2,5	
Pseudechis	38,6	20,0	26,6± 3,6		44,4	16,7	25,2± 7,3	
Pseudonaja	9,5	0,0	0,3± 0,5		11,1	0,0	0,0	
Parademansia	14,3	6,7	6,6± 1,7		11,1	0,0	5,2± 4,3	
Oxyuranus	14,3	6,7	3,7± 4,5		11,1	8,3	5,2± 4,3	
Tropidechis	42,9	6,7	18,2± 1,9	63,6	33,3	8,3	9,7± 2,7	66,7

le venin homologue de *Oxyuranus*, pourrait correspondre à des communautés antigéniques étroites entre ces deux genres monospécifiques, alors que les *Pseudonaja* n'en sont peut-être pas particulièrement proches. C'est ce qui ressort également des tests de neutralisation (Sutherland, 1976).

Bungarus fasciatus présente au contraire des communautés antigéniques notables (29 à 43%, $\bar{x}$ = 34,9 ± 4,8%) avec tous les Elapinae autres que les quatre genres précédents. Le point intéressant est que ces communautés sont du même ordre de grandeur vis à vis des genres d'Asie et d'Afrique (36,3% avec *Naja*, 28,6% avec *Hemachatus*) d'une part, et les Elapinae australiens d'autre part (35,6 ± 6,1%). De ce point de vue, *Bungarus* occupe une position assez centrale, sans être cependant particulièrement proche d'un genre quelconque.

En tant que genre, les Najas sont un peu plus éloignés des Elapinae australiens (20,5 ± 4,8% d'antigènes communs, les genres *Oxyuranus, Parademansia* et *Pseudonaja* étant toujours mis à part) que de *Bungarus* (36,3 ± 12,2%) ou de *Hemachatus* (38,7 ± 2,5%), la différence étant très significative ($p<0,01$). C'est également ce qui ressort des données de Boquet & al. (1969) et de Elliott (1978). Le fait que *Hemachatus* n'ait pas plus d'antigènes communs avec les Najas d'Afrique (38,5 ± 3%) qu'avec les Najas d'Asie (40 ± 2,7%) confirme qu'il s'agit bien d'un genre différent dont l'individualisation est antérieure à la dispersion des Najas.

Parmi les Elapinae australiens, en tenant compte à la fois des immunoélectrophorèses et des immunodiffusions, ceux qui se rapprochent le plus de *Bungarus* et de *Naja* sont d'abord les genres *Austrelaps* et *Pseudechis* puis, dans l'ordre, *Cryptophis, Acanthophis, Tropidechis, Notechis* et *Hoplocephalus*. La proportion d'antigènes communs entre les venins de *Austrelaps* et *Pseudechis,* d'une part, *Bungarus, Naja* et même, bien qu'à un moindre degré, *Dendroaspis*, d'autre part, est particulièrement élevée. Il est possible que, comme *Bungarus, Austrelaps* et *Pseudechis* occupent une position assez „centrale" parmi les Elapinae de l'Ancien Monde et soient, de ce fait, responsables d'une partie importante de la bonne antigénicité de l'immun-sérum polyvalent australien.

Les résultats obtenus avec le sérum australien doivent être interprétés à part, puisqu'un immunsérum polyvalent donne presque toujours davantage de lignes de précipités en réactions hétérologues qu'un immun-sérum monospécifique. On constate toutefois que la proportion d'antigènes communs avec les différents venins de *Bungarus, Naja* et *Hemachatus* (50 ± 10,6%) est du même ordre de grandeur qu'avec les venins australiens hétérologues, *Parademansia* exclu (59,1 ± 9,5%), la différence n'étant pas significative (p = 0,25). Ceci confirme que les Elapinae australiens ne forment pas un groupe particulier.

Il serait également très intéressant de connaître les relations qui existent entre les Elapinae de l'Ancien et du Nouveau Monde. Aucune espèce américaine ne figure dans notre échantillon, mais Minton (1979) donne les résultats d'immunodiffusions (technique d'Ouchterlony) réalisées avec un venin de *Micrurus fulvius* opposé aux sérums anti-*Naja naja* et anti-*Notechis scutatus*. Il n'y a aucune ligne de précipité dans le premier cas, mais deux (sur six en réaction homologue) dans le second. Ces données doivent, certes, être confirmées sur un matériel plus important, mais elles suggèrent cependant que les Elapinae américains pourraient être plus proches des espèces australiennes que des espèces asiatiques.

Dans notre matériel, seuls les Najas et, à un moindre degré, les Mambas, se prêtent à une étude intra-générique. Parmi ces derniers, *Dendroaspis viridis* possède 53% d'antigènes communs avec *D. jamesoni* et *D. polylepis*, mais seulement 47% avec *D. angusticeps*, les lignes de précipités étant en outre beaucoup moins denses (fig. 3). Christensen & Anderson (1967) avaient déjà constaté, par des tests de neutralisation, que le venin de *D. angusticeps* s'écartait nettement de celui des autres espèces.

En ce qui concerne le genre *Naja*, on constate que les espèces africaines ont plus de communautés antigéniques entre elles (60,9 ± 12,1%) qu'avec les Najas asiatiques (44,2 ± 7,6%), la différence étant très significative ($p<0,001$). Parmi les Najas africains, *N. nivea* n'a que 50 à 53% d'antigènes communs avec les autres espèces, ce qui est également le cas entre *N. nigricollis* et *N. haje*. Les communautés antigéniques sont

déjà plus élevées entre *N. nigricollis* et *N. melanoleuca* (68,5%) et elles atteignent 76,5% entre *N. haje* et *N. melanoleuca*, chiffre élevé qui suggère une affinité étroite entre ces deux espèces. Il convient toutefois de signaler qu'en immunodiffusion Boquet & al. (1969) trouvent, en les opposant au sérum anti-*N. nigricollis*, au moins autant de lignes de précipités avec le venin de *N. nivea* qu'avec ceux de *N. haje* et *N. melanoleuca.*

La systématique des Najas asiatiques (Moyen Orient et Péninsule Arabique exclus, qui sont habités par *N. haje*) prête encore à discussion. Klemmer (1963) et Leviton (1968) considèrent qu'il s'agit d'une seule espèce, *Naja naja,* comprenant 10 sous-espèces: *oxiana* (de la Transcaspie au Pendjab), *naja* (Inde, Bengla-Desh, Ceylan), *kaouthia* (Bengale et Péninsule Indo-Chinoise), *atra* (sud de la Chine, Formose), *philippinensis* (Luçon, Mindonoro), *samarensis* (Samar,

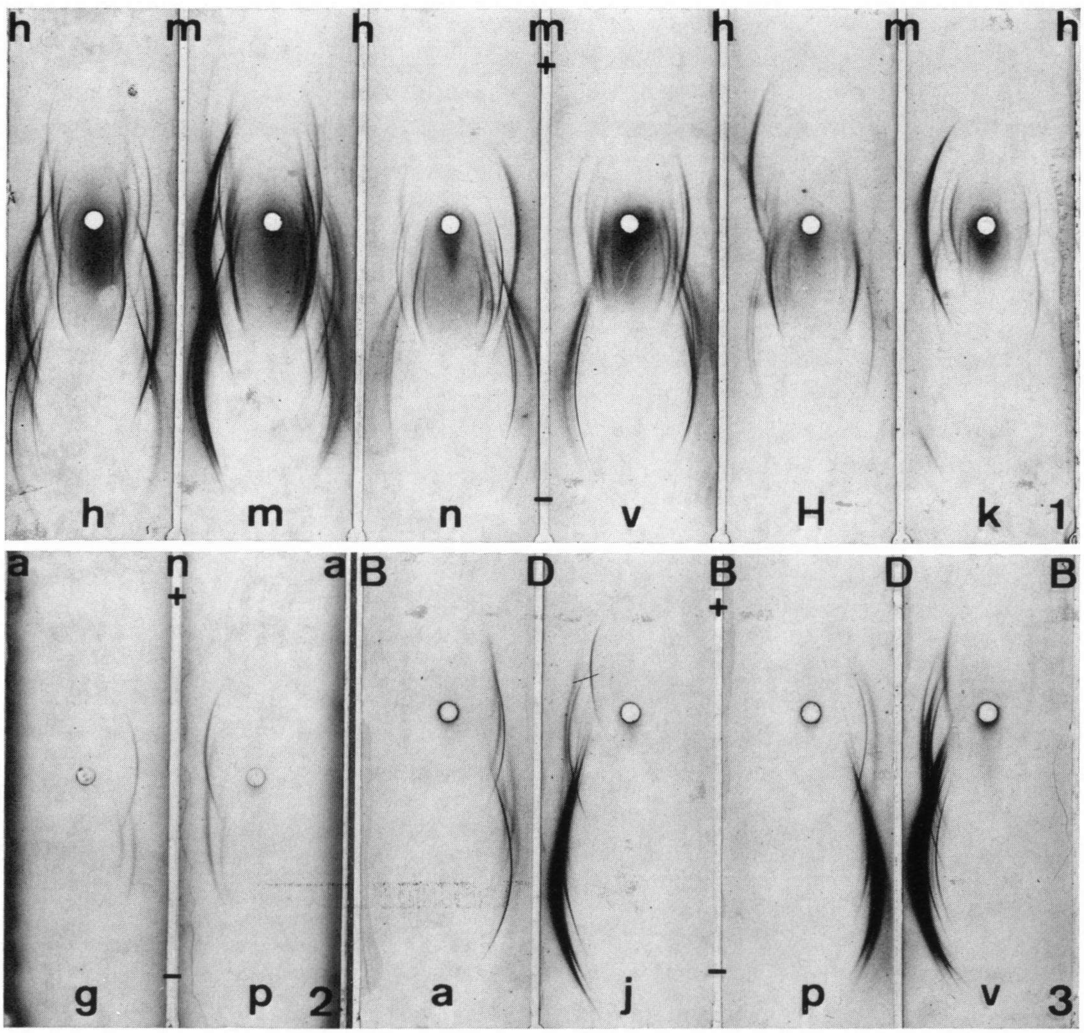


Fig. 1. Sérums anti-*Naja haje* (h) et anti-*Naja melanoleuca* (m), opposés aux venins de *Naja haje* (h), *N. melanoleuca* (m), *N. nigricollis* (n), *N. nivea* (v), *Hemachatus haemachatus* (H) et *N. naja kaouthia* (k).

Fig. 2. Sérums anti-toxine alpha (a) et anti-*Naja nigricollis* (n), opposés aux venins de *Pseudechis guttatus* (g) et *P. papuanus* (p).

Fig. 3. Sérums anti-*Bungarus fasciatus* (B) et anti-*Dendroaspis viridis* (D), opposés aux venins de *Dendroaspis angusticeps* (a), *D. jamesoni* (j), *D. polylepis* (p) et *D. viridis* (v).

Leyte, Bohol, Mindanao), *miolepis* (Bornéo, Biliton, Palawan), *sagittifera* (Adamans), *sumatrana* (Sumatra) et *sputatrix* (Malaisie, Java, Iles de la Sonde, Célèbes). Mais Deraniyagala (1960, 1961) estime qu'il existe en réalité quatre espèces, *N. oxiana, N. naja* (avec six sous-espèces), *N. kaouthia* (de la Péninsule-Indochinoise aux Philippines, avec au moins quatre sous-espèces) et *N. sputatrix* (Malaisie et Indonésie, avec au moins trois sous-espèces). D'après les communautés antigéniques des venins, les Najas asiatiques étudiés ici s'apparentent plus à des sous-espèces qu'à des espèces et *oxiana*, par exemple, la forme la plus différenciée morphologiquement, a autant d'affinités avec *kaouthia, atra* et *philippinensis* (72,8 ± 7,9% d'antigènes communs), que ceux-ci entre eux (69,6 ± 4,1%) et s'écarte tout autant des Najas africains. Dans la mesure où il est possible d'en juger d'après les figures et en l'absence d'un décompte précis des lignes de précipités, ces conclusions correspondent aux résultats obtenus, en immunoélectrophorèse, par Tu & Ganthavorn (1968) chez *kaouthia* et *atra* et, en immunodiffusion, par Minton (1979) chez *oxiana, naja, kaouthia, atra* et *philippinensis*, et par Elliott (1978) chez *oxiana* et *kaouthia*. Mais, bien entendu, seule l'étude de la morphologie et du comportement des animaux dans les zones de contact entre espèces supposées permettrait de résoudre ce problème de systématique. La coloration des Najas asiatiques étant extrêmement variable (Saint Girons, 1972), bon nombre des sous-espèces basées sur ce seul critère sont sujettes à caution, notamment celles décrites par Deraniyagala en Inde. Toutefois, d'après cet auteur, *N. oxiana* et *N. naja* seraient sympatriques dans le Pendjab et il en serait de même de *N. naja* et de *N. kaouthia* au Bengla-Desh et en Assam. Si elles étaient confirmées, ces données seraient la preuve d'une différenciation spécifique.

Outre les réactions figurant sur le tableau I, nous avons également opposé les différents venins à un sérum anti-toxine alpha de *Naja nigricollis* et cette toxine aux sept immun-sérums. La ligne de précipité correspondante, très dense avec *N. nigricollis*, encore bien nette avec *N. haje* et *N. melanoleuca*, devient faible avec *N. nivea* et *Hemachatus* et nulle dans tous les autres cas. Boquet & al. (1969) avaient déjà obtenus des résultats analogues avec le même matériel. Mais, en faisant varier le rapport antigènes/anticorps, ces auteurs avaient réussi à mettre en évidence une faible communauté antigénique entre la toxine alpha de *N. nigricollis* et son homologue de *N. n. kaouthia* et *N. n. philippinensis*, les résultats restant totalement négatifs avec *Dendroaspis viridis, Bungarus fasciatus, Pseudechis australis, Notechis scutatus* et *Oxyuranus scutellatus*. Autrement dit, il existe une bonne corrélation entre les communautés antigéniques globales et celles correspondant à la seule toxine alpha de *N. nigricollis*.

Les Elapinae sont largement répandus dans toutes les régions sub- et intertropicales et n'atteignent des zones fraîches qu'en Australie méridionale. La sous-famille comprend environ 50 genres et près de 200 espèces (Hoge & Romano, 1971; Gans, 1978; Underwood, 1979) dont 3 genres voisins et 52 espèces en Amérique, 14 genres et 56 espèces en Afrique et Asie, 33 genres et 91 espèces en Océanie. Dans ce dernier continent où les autres Colubroidea sont rares et le plus souvent même absents, les Elapinae se sont différenciés plus que partout ailleurs. Ils restent cependant encore relativement mal connus, en dépit des travaux récents de McDowell (1969, 1970) et de Cogger (1975). Les Elapinae ont des modes de vie très variés. Quatre genres sont semi-fouisseurs et beaucoup d'autres comprennent des Serpents qui s'exposent peu volontiers à l'extérieur et seulement la nuit (c'est le cas du genre *Cryptophis* dans notre échantillon). A un moindre degré, il en est de même de *Bungarus*. Divers Elapinae (*Notechis* et *Tropidechis* dans notre échantillon) chassent normalement à l'extérieur, mais se déplacent assez peu, alors que d'autres sont des Serpents très actifs (*Naja, Hemachatus, Demansia, Pseudechis* et surtout *Austrelaps, Oxyuranus, Parademansia* et *Pseudonaja*). Quelques genres, également représentés par des Serpents très actifs, ont des tendances semi-arboricoles plus ou moins accentuées (*Dendroaspis, Hoplocephalus*) et un genre africain est semi-aquatique. Enfin, *Acanthophis*, qui ressemble aux Vipères, a un mode de vie analogue. Le régime des Elapinae est assez varié, mais les proies sont surtout constituées par des Amphibiens, des Mammifères et, surtout dans les zones

arides, des Lézards. En outre, on trouve dans cette sous-famille une proportion d'espèces ophiophages très supérieure à celle qui existe dans tout autre groupe de Serpents. En dépit de ces différences de mode de vie les Elapinae ont — à l'exception de *Acanthophis* — une morphologie externe assez uniforme et les coupures dans le groupe sont difficiles. Tout au plus, certains genres sont-ils considérés comme proches les uns des autres. C'est le cas, notamment, des trois genres américains, ainsi que de *Oxyuranus* et *Parademansia, Naja* et *Hemachatus, Pseudechis* et *Austrelaps* (Underwood, 1979).

Avec 15 genres et 29 espèces (dont 3 sont représentées par 9 sous-espèces), notre échantillon n'est évidemment pas représentatif de l'ensemble des Elapinae. Nous n'avons aucune espèce américaine et les formes semi-fouisseuses manquent. Il est cependant possible de tirer quelques conclusions des résultats obtenus.

La première et sans doute la plus intéressante est que les Elapinae australiens ne forment pas un groupe homogène et ne se différencient pas fondamentalement des autres représentants de la sous-famille. Peut-être sont-ils un peu plus proches des espèces américaines (ce serait le cas de *Notechis scutatus*, d'après les résultats de Minton, 1979), mais la proportion assez élevée des antigènes communs entre la plupart des espèces australiennes et *Bungarus* ou, à un moindre degré, les Najas, rend peu probable l'hypothèse d'une très longue évolution séparée. La richesse et la diversité de la faune océanienne d'Elapinae, contrastant avec la pauvreté de cette même faune en Colubridae dont les rares représentants sont des immigrants de fraîche date, pose un problème paléobiogéographique difficile (Rage, 1976). Underwood (1957, 1967) suggère que les Elapinae australiens dérivent d'Hydrophiinae primitifs ayant atteint ce continent à une époque où les Colubroidea terrestres en étaient encore incapables. Cette hypothèse, bien que très séduisante, ne cadre pas avec nos données sur les Elapinae, ni avec les quelques tests que nous avons faits avec deux Serpents marins. En effet, opposé à l'immun-sérum australien polyvalent, les venins de *Laticauda semifasciata* et *Enhydrina schistosa* donnent respectivement 2 et 5 lignes de précipités en immunoélectrophorèse, c'est à dire plutôt moins que les venins de *Bungarus fasciatus* et des Najas (4 à 7). D'autre part, ces mêmes venins de *Laticauda* et *Enhydrina* ont peu d'antigènes communs avec *Bungarus* (7 et 21%) et moins encore avec les Najas (en moyenne 8 et 0%). Tu & Ganthavorn (1969) avaient déjà obtenu la même absence de lignes de précipités avec un immun-sérum de *Enhydrina schistosa* et deux venins de *Naja naja.* Autrement dit, si ces deux Serpents marins paraissent plus proches des Elapinae australiens que de *Bungarus* ou *Naja*, les Elapinae australiens sont cependant plus proches des autres Elapinae que de *Laticauda* ou *Enhydrina.* D'après les communautés antigéniques des sérums sanguins, Minton & da Costa (1975) constatent que les Serpents marins forment un groupe assez homogène et proche des Elapinae australiens. Malheureusement, l'absence d'Elapinae africains et asiatiques dans le matériel de ces auteurs ne permet pas des conclusions à l'échelle de la famille. Il ressort donc de ces données que les communautés antigéniques entre Elapinae, Laticaudinae et Hydrophiinae sont encore très mal connues et mériteraient de nouvelles recherches.

Les venins des différentes espèces de *Dendroaspis* sont, nous l'avons vu, très différents de ceux de tous les autres Elapinae étudiés ici. D'après des critères ostéologiques, ce genre avait d'ailleurs été parfois placé dans une sous-famille ou même une famille particulière (Anthony, 1955), ce qui semble un peu excessif. Le genre *Dendroaspis* n'en paraît pas moins assez isolé parmi les Elapinae. En ce qui concerne les communautés antigéniques des venins, les genres *Oxyuranus* et *Parademansia*, probablement proches l'un de l'autre, ainsi que le genre *Pseudonaja*, se différencient également de nombreux autres Elapinae, leurs rapports avec les espèces australiennes restant malheureusement imprécis. Il convient toutefois de rappeler que si une proportion élevée d'antigènes communs dans les venins indique sans aucun doute une parenté phylogénique assez étroite, l'inverse n'est pas toujours vrai. En effet, la constitution chimique des venins de Serpents peut éventuellement varier très rapidement, puisque l'on trouve parfois d'importantes différences entre des sous-espèces ou même de simples populations sans statut taxonomique, tout au moins chez des Viperidae (Vellard, 1939;

Schenberg, 1963; Jimenez-Porras, 1964; Saint Girons & Detrait, 1978).

Parmi les autres résultats qui peuvent avoir un intérêt phylogénique ou systématique, on peut citer la position assez centrale de *Bungarus*, les différences existant entre les Najas d'Afrique et d'Asie, la proportion élevée d'antigènes communs aux Najas d'Asie et le fait que *Hemachatus* n'est pas plus proche des Najas d'Afrique que des Najas d'Asie, toutes données qui n'appellent pas de commentaire particulier.

D'autre part, on constate que d'éventuelles convergences écologiques ou anatomiques, notamment celles qui existent entre *Dendroaspis* et *Oxyuranus*, ou entre *Naja* et *Pseudonaja*, ne se manifestent pas au niveau des communautés antigéniques des venins. Il est très possible que les venins d'espèces ayant un mode de vie et un régime très semblables tendent à présenter des propriétés pharmacologiques voisines (par exemple, une plus forte toxicité avec une composante neurotoxique importante chez des Serpents piscivores ou arboricoles qui ne peuvent retrouver facilement leur proie après envenimation). Mais, lorsqu'elles existent, les communautés antigéniques des venins traduisent, comme on pouvait s'y attendre, des affinités phylogéniques et non fonctionnelles.

BIBLOGRAPHIE

ANTHONY, J., 1955. Essai sur l'évolution anatomique de l'appareil venimeux des Ophidiens. Ann. Sci. nat. (Zool.) (11) **17**: 7-53.

BOQUET, P., 1979. Immunological properties of snake venoms. *In* CHEN-YUAN LEE, Snake venoms: 751-824 (Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg).

BOQUET, P., J. DETRAIT & R. FARZAMPAY, 1969. Recherches biochimiques et immunologiques sur le venin des Serpents, 3. Etude des analogues de l'antigène alpha du venin de Naja nigricollis. Ann. Inst. Pasteur, **116**: 522-542.

CHRISTENSEN, P. A. & C. G. ANDERSON, 1967. Observations on Dendroaspis venoms. *In* F. E. RUSSELL & P. R. SAUNDERS, Animals' Toxins: 223-234 (Pergamon, New York).

COGGER, H. G., 1975. Reptiles and amphibians of Australia: 1-584 (Reed, Sydney, Wellington, London).

DERANIYAGALA, P. E. P., 1960. The taxonomy of the cobras of South Eastern Asia. Spolia Zeyl., **29**: 41-63.

——, 1961. The taxonomy of the cobras of South Eastern Asia, 2. Spolia Zeyl., **29**: 205-232.

DETRAIT, J. & H. SAINT GIRONS, 1979. Communautés antigéniques des venins et systématique des Viperidae. Bijdr. Dierk., **49**: 71-80.

ELLIOTT, W. B., 1978. Chemistry and immunology of reptilian venoms. *In* C. GANS & K. A. GANS, Biology of the reptilia, **8**: 163-436 (Academic Press, London, New York).

GANS, C., 1978. Reptilian venoms: some evolutionary considerations. *In* C. GANS & K. A. GANS, Biology of the reptilia, **8**: 1-42 (Academic Press, London, New York).

GRASSET, E., E. PONGRATZ & T. BRECHBUHLER, 1956. Analyse immunochimique des constituants des venins de Serpents par la méthode de précipitation en milieu gélifié. Ann. Inst. Pasteur, **91**: 162-186.

HOGE, A. R. & S. A. R. W. D. L. ROMANO, 1971. Neotropical pit vipers, sea snakes, and coral snakes. *In* W. BÜCHERL & E. E. BUCKLEY, Venomous animals and their venoms, **2**: 211-293 (Academic Press, New York, London).

JIMENEZ-PORRAS, J. M., 1964. Intraspecific variations in composition of venom of the jumping viper, Bothrops nummifera. Toxicon, **2**: 187-195.

KLEMMER, K., 1963. Liste der rezenten Giftschlangen. *In* Die Giftschlangen der Erde: 265-464 (N.G. Elvert Universitäts-Verlag, Marburg/Lahn).

LEVITON, A. E., 1968. The venomous terrestrial snakes of East Asia, India, Malaya, and Indonesia. *In* W. BÜCHERL, E. E. BUCKLEY & V. DEULOFEU, Venomous animals and their venoms, **1**: 529-576 (Academic Press, New York, London).

McDOWELL, S. B., 1969. Notes on the Australian sea-snake Ephalophis greyi M. Smith (Serpentes; Elapidae, Hydrophiinae) and the origin and classification of sea-snakes. Zool. J. Linn. Soc., **48**: 333-349.

——, 1970. On the status and relationships of the Solomon island elapid snakes. J. Zool. (London), **161**: 145-190.

MINTON, S. A., 1979. Common antigens in snake venoms. *In* CHEN-YUAN LEE, Snake venoms: 847-862 (Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg).

MINTON, S. A. & M. S. DA COSTA, 1975. Serological relationships of sea snakes and their evolutionary implication. *In* W. A. DUNSON, The biology of sea snakes: 33-55 (Univ. Park Press, Baltimore).

MUNJAL, D. & W. B. ELLIOTT, 1972. Immunological and histochemical identity of esterases and other antigens in elapid venoms. Toxicon, **10**: 47-54.

RAGE, J. C., 1976. Paléontologie, phylogénie et paléobiogéographie des Serpents. Thèse, Université de Paris VI (C.N.R.S. n° A 012413): 1-144.

SAINT GIRONS, H., 1972. Les Serpents du Cambodge. Mém. Mus. natn. Hist. nat., (A) **74**: 1-170.

SAINT GIRONS, H. & J. DETRAIT, 1978. Communautés antigéniques des venins et systématique des Vipères européennes. Etude immunoélectrophorétique. Bull. Soc. zool. Fr., **103**: 155-166.

SCHENBERG, S., 1963. Immunological (Ouchterlony method) identification of intra-subspecies qualitative differences in snake venom composition. Toxicon, **1**: 67-75.

SUTHERLAND, S. K., 1976. Treatment of snake bite in Australia and Papua New Guinea. Aust. Fam. Phys., **1976**: 272-288.

TU, A. T. & S. GANTHAVORN, 1968. Comparison of Naja naja siamensis and Naja naja atra venoms. Toxicon, **5**: 207-211.

—— & ——, 1969. Immunological properties and neutralization of sea snake venoms from Southeast Asia. Amer. J. trop. med. Hyg., **18**: 151-154.

UNDERWOOD, G., 1957. On lizards of the family Pygopodidae. A contribution to the morphology and phylogeny of the Squamata. J. Morphol., **100**: 207-268.

——, 1967. A contribution to the classification of snakes: 1-179 (Brit Mus. (N.H.), London, n° 653).

——, 1979. Classification and distribution of venomous snakes in the world. *In* CHEN-YUAN LEE, Snake venoms: 16-40 (Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg).

VELLARD, J., 1939. Variations géographiques du venin de Crotalus terrificus. C. R. Soc. Biol., **130**: 463-464.

Reçu le 2 avril 1980